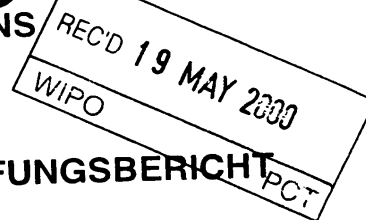


# VERTRAG ÜBER INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)




Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 4894/00WO-Ts	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/01674	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 15/03/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 13/03/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/54		
Anmelder ROCHE DIAGNOSTICS GMBH		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
  
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).  
  
 Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☒ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  07/07/1999	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  15.05.00
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Hillenbrand, G  Tel. Nr. +49 89 2399 8428



# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/01674

## I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

### Beschreibung, Seiten:

1-33 ursprüngliche Fassung

### Patentansprüche, Nr.:

1-16 eingegangen am 14/04/2000 mit Schreiben vom 13/04/2000

### Zeichnungen, Blätter:

1-31 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,      Seiten:
- ☐ Ansprüche,      Nr.:
- ☐ Zeichnungen,      Blatt:

3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

## V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

### 1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche 1-16
	Nein: Ansprüche
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche 1-16
	Nein: Ansprüche
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche 1-16
	Nein: Ansprüche

2. Unterlagen und Erklärungen

**siehe Beiblatt**

**VI. Bestimmte angeführte Unterlagen**

1. Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

und / oder

2. Nicht-schriftliche Offenbarungen (Regel 70.9)

**siehe Beiblatt**

**VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

**siehe Beiblatt**

**Relevante Dokumente:**

- D1: WO 97 29209 A (HARVARD COLLEGE) 14. August 1997  
D2: US-A-5 466 591 (GELFAND DAVID H ET AL) 14. November 1995

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

**Neuheit (Artikel 33.2 PCT):**

Im Hinblick auf die oben genannten Dokumente **D1-D2** kann dem Gegenstand der Ansprüche 1-16 die erforderliche Neuheit zuerkannt werden.

Das Dokument **D1** beschreibt das Einbringen einer Thioredoxin Bindestelle in E.coli DNA Polymerase I, jedoch kein Austauschen von Exonuklease Domänen. **D1** beschreibt keine Chimären, die Polymeraseaktivität und 3'-Exonukleaseaktivität aufweisen, wobei die Domänen, die diese Aktivität aufweisen aus unterschiedlichen Polymerasen stammen.

**D2** beschreibt bereits Polymerasechimäre aus Tma-DNA Polymerase und Taq-DNA Polymerase, die z.B. die 5'-3'-Polymeraseaktivität von Taq und die 3'-5'-Exonukleaseaktivität von Tma-DNA Polymerase aufweisen (siehe Spalte 14, Absatz 2). Die in **D2** beschriebenen Chimären entsprechen jedoch nicht im wesentlichen der SEQ ID NO: 8, 10 oder 12, da im Gegensatz zu **D2** in der vorliegenden Anmeldung der Schnitt **nicht** zwischen den beiden Domänen gesetzt wurde.

**Erfinderische Tätigkeit (Artikel 33.3 PCT):**

Der Gegenstand der Ansprüche 1-16 verfügt auch über die erforderliche erfinderische Tätigkeit da überraschenderweise gezeigt werden konnte, daß die

beanspruchten Chimären thermostabiler sind als die Chimären von **D2**, bei denen genau zwischen den Domänen geschnitten wurde (siehe das Beispiel 4 in der Anmeldung).

**Zu Punkt VI**

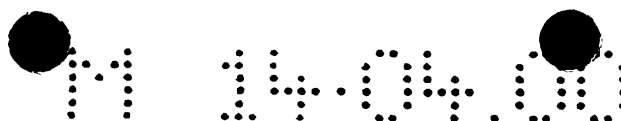
Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

Anmelde Nr. Patent Nr.	Veröffentlichungsdatum (Tag/Monat/Jahr)	Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)	Prioritätsdatum (zu Recht beansprucht) (Tag/Monat/Jahr)
EP0 892058	20.01.1999	03.07.1998	09.07.1997

**Zu Punkt VIII**

**Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Der nunmehr verwendete neue Ausdruck "im wesentlichen" in den Ansprüchen 1-3 ist nicht ausreichend klar und es ist zudem fraglich ob dieser Ausdruck durch die ursprüngliche Beschreibung gestützt wird (Einwand unter Artikel 6 PCT).

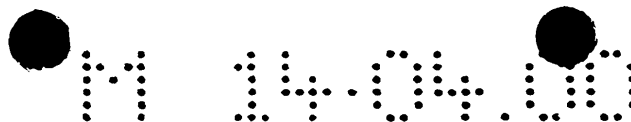


## Patentansprüche

4894/00/WO-Kil

- 1) Polymerasenchimäre zusammengesetzt aus funktionellen Aminosäurefragmenten von mindestens zwei unterschiedlichen Polymerasen, wobei die funktionellen Aminosäurefragmente in der Polymerasenchimäre aktiv sind und, wobei die Polymeraseaktivität aufweisende Domäne von der ersten Polymerase stammt und die 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Domäne von der zweiten Polymerase stammt und wobei die Aminosäuresequenz der Polymerasenchimäre im wesentlichen der SEQ ID NO: 8 entspricht.
- 2) Polymerasenchimäre zusammengesetzt aus funktionellen Aminosäurefragmenten von mindestens zwei unterschiedlichen Polymerasen, wobei die funktionellen Aminosäurefragmente in der Polymerasenchimäre aktiv sind und, wobei die Polymeraseaktivität aufweisende Domäne von der ersten Polymerase stammt und die 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Domäne von der zweiten Polymerase stammt und wobei die Aminosäuresequenz der Polymerasenchimäre im wesentlichen der SEQ ID NO: 10 entspricht.
- 3) Polymerasenchimäre zusammengesetzt aus funktionellen Aminosäurefragmenten von mindestens zwei unterschiedlichen Polymerasen, wobei die funktionellen Aminosäurefragmente in der Polymerasenchimäre aktiv sind und, wobei die Polymeraseaktivität aufweisende Domäne von der ersten Polymerase stammt und die 3'-5'-Exonukleaseaktivität aufweisende Domäne von der zweiten Polymerase stammt und wobei die Aminosäuresequenz der Polymerasenchimäre im wesentlichen der SEQ ID NO: 12 entspricht.
- 4) Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-3, wobei Chimäre zusätzlich RT-Aktivität aufweist.
- 5) Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-4, wobei in die Aminosäuresequenz der Chimäre Histin-tag eingebaut wurden.
- 6) DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-5.
- 7) DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ ID NO: 2.
- 8) DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ ID NO: 4.

I\_489400wo\_000413\_epa.doc



- 5 -

- 9) DNA-Sequenz einer Polymerasenchimäre gemäß SEQ ID NO: 6.
- 10) Vektor enthalten eine DNA-Sequenz gemäß der Ansprüche 6-9.
- 11) Transformierte Zelle, die den Vektor gemäß Anspruch 10 enthält.
- 12) Verfahren zur Herstellung der Polymerasenchimären gemäß einem der Ansprüche 1-5, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren die folgenden Schritte umfaßt:
  - Planung von Varianten mit Hilfe von Aminosäuresequenzalignments, von 3D-Modellen oder mit Hilfe von experimentell ermittelten 3D-Strukturen
  - gentechnische Herstellung der Domänen austauschvarianten
  - Legierung der DNA-Fragmente in Ausgangsvektoren
  - Expression der Chimären in einem Wirt, der durch DNA-Fragment tragenden Vektoren transformiert wurde
  - Aufreinigung der exprimierten Polymerasenchimäre
- 13) Verwendung der Polymerasenchimären gemäß einem der Ansprüche 1-5 zu PCR.
- 14) Verwendung der Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-5 zur Sequenzierung von DNA-Fragmenten.
- 15) Verwendung der Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-5 zur RT-PCR ausgehend von einem RNA-template.
- 16) Kit enthaltend eine Polymerasenchimäre gemäß einem der Ansprüche 1-5.